

Laboratoire BVpam – EA 3061

Biotechnologies Végétales appliquées aux Plantes Aromatiques et Médicinales

Faculté des Sciences et Techniques

Université Jean Monnet, Université de Lyon

23, rue du Docteur Paul Michelon

42023 Saint-Etienne Cedex 2

Proposition de stage gratifié (6 mois entre janvier et juillet 2016), Master 2^{ème} Année

Le parfum des roses est un mélange complexe de molécules volatiles. Très récemment, nous avons montré que l'un des composants majeurs de ce parfum, le géraniol, un monoterpène acyclique, était synthétisé par une voie de biosynthèse qui semble unique chez les végétaux¹. En effet, chez les plantes qui émettent du géraniol, l'enzyme concernée est une GES² transformant le GPP³ en géraniol. On connaît ainsi une dizaine de GES chez différentes espèces, comme par exemple, *Ocimum basilicum*, *Cymbopogon citratus*, ou *Pelargonium x hybridum* cv. 'Rosat'. Chez les roses, il n'y a pas de GES mais une NuDiX⁴ hydrolase, nommée NUDX1, qui transforme le GPP en GP⁵, lui-même transformé ultérieurement en géraniol par une phosphatase hypothétique encore inconnue. Les NuDiX hydrolases n'ont jamais été décrites comme pouvant intervenir dans une voie de biosynthèse de composés volatils. En fait, les NuDiX hydrolases les plus proches de NUDX1 chez *Arabidopsis thaliana*, *Escherichia coli* ou encore *Homo sapiens*, hydrolysent les liaisons phosphates du 8-oxo-dGTP⁶. Cette dernière molécule intégrée à l'ADN peut s'apparier à l'adénine et à la cytosine et créer une mutation. L'accumulation de ce type d'erreurs peut s'avérer létale pour les cellules, voire pour l'organisme. Récemment, il a même été montré que, dans certains cancers humains, le gène le plus proche de *NUDX1* était surexprimé, empêchant ainsi les cellules tumorales de s'auto-détruire par accumulation de 8-oxo-dGTP et donc par accumulation de mutations létales pour les cellules en prolifération. Ce type de fonction est donc bien loin du parfum des roses et de la production du géraniol.

La découverte de cette nouvelle voie pose plusieurs questions biochimiques. Chez les autres plantes, les GES sont au début d'une voie qui conduit au géraniol, au nérol, au citronellol ainsi qu'à leurs nombreux isomères et dérivés. Chez les roses, ces produits sont présents. Sont-ils eux-aussi liés à la biosynthèse du géraniol ? Chez les roses, il existe aussi d'autres terpènes acycliques. C'est le cas par exemple du farnésol, un sesquiterpène acyclique. Est-il synthétisé

¹, Magnard et al., 2015, Science 349, 81-83

², les géraniol-synthases appartiennent à la famille des terpène-synthases

³, le géranyl diphosphate est le précurseur de tous les monoterpènes

⁴, « nucleoside diphosphate linked to moiety X »

⁵, géranyl monophosphate

⁶, « 8-oxo-deoxyguanosine triphosphate »

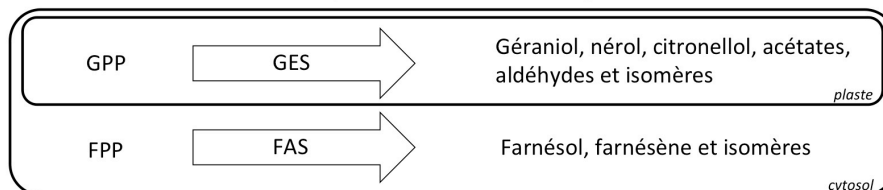
à partir du FPP⁷, par une FAS⁸, comme chez la plupart des plantes ou bien par NUDX1 ? Ses isomères sont-ils synthétisés par la même voie ?

La rose n'est pas une plante modèle : la transgénèse est complexe et très longue, et le génome n'est pas encore disponible... Il est donc difficile de répondre directement aux questions précédentes. La démarche envisagée dans ce travail consiste à étudier les espèces de roses sauvages et de corréler la présence de NUDX1, son activité et la présence des différents terpènes acycliques. Une corrélation positive serait un indice fort en faveur d'une voie unique commençant par NUDX1, alors qu'une absence de corrélation serait un indice en faveur de l'existence d'autres mécanismes biosynthétiques.

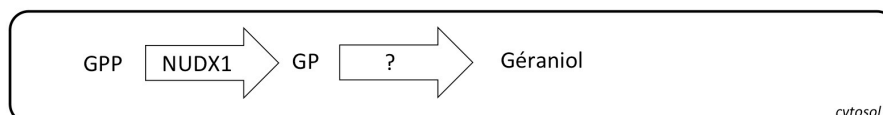
Durant son stage de 6 mois gratifiés, l'étudiant devra utiliser les méthodes de clonage de gènes et les outils informatiques permettant d'identifier les séquences les plus proches de NUDX1 dans chaque espèce (copies, orthologues, paralogues, allèles...). Il devra ensuite réaliser des RT-qPCR sur les séquences les plus proches. Il devra aussi étudier les composés volatils par GC-MS. Il devra enfin réaliser des études statistiques, par exemple sous langage R, pour décrire les données métabolomiques de GC-MS et pour établir des corrélations avec les RT-qPCR. Par ailleurs, ce travail ayant déjà commencé grâce au soutien d'un Programme Exploratoire Premier Soutien du CNRS, l'étudiant devra faire preuve d'un esprit d'équipe.

Contact : Jean-Claude Caissard
04 77 48 15 25
caissard@univ-st-etienne.fr

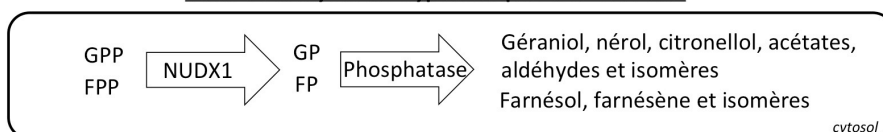
Voies de biosynthèse admises chez les plantes



Voie de biosynthèse démontrée chez les roses



Voies de biosynthèse hypothétiques chez les roses



⁷, le farnésyl diphosphate est le précurseur de tous les sesquiterpènes

⁸, les farnésol-synthases appartiennent à la famille des terpène-synthases